

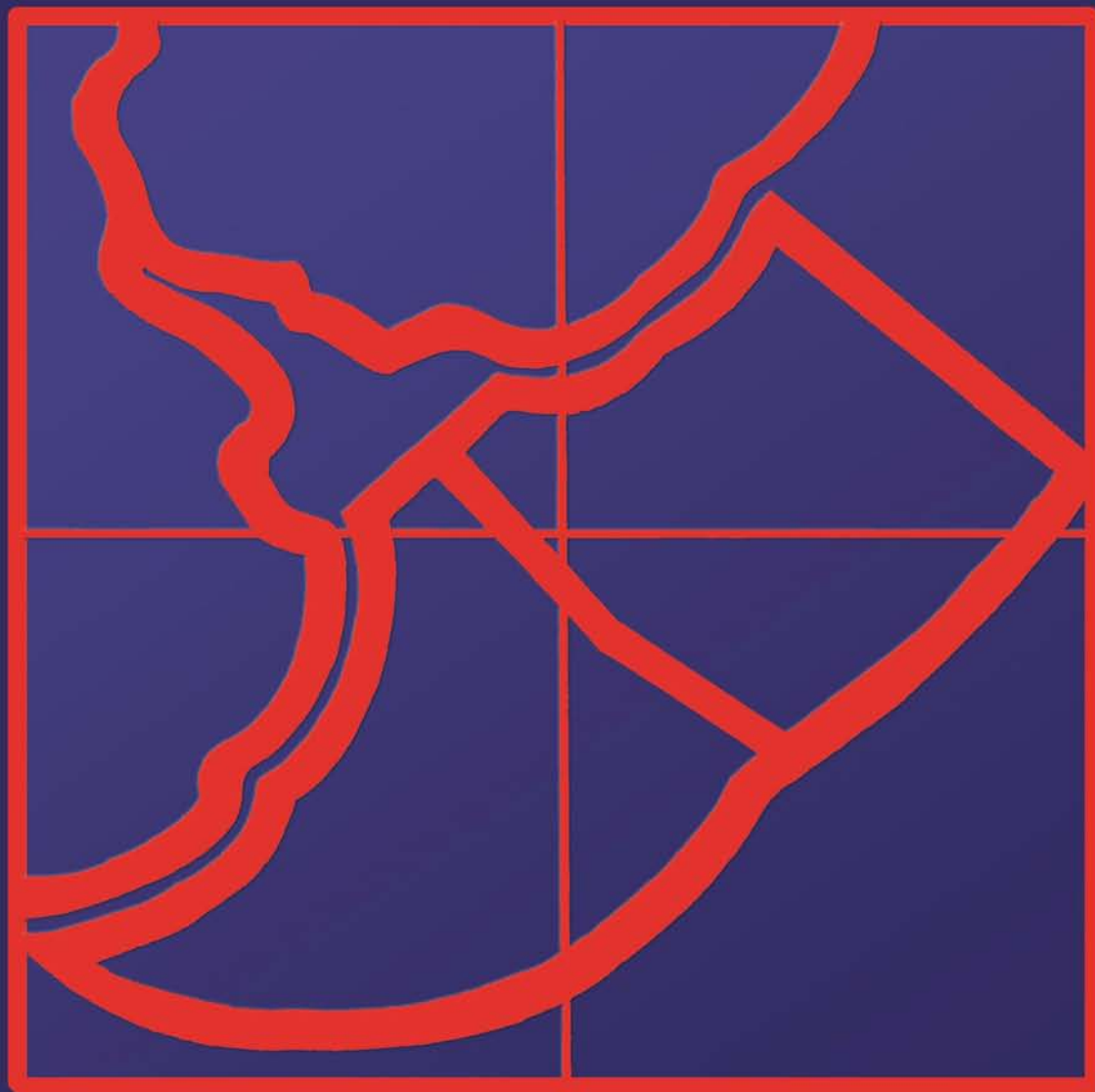
ISSN 1015-3233

FRENTE MARÍTIMO

Publicación de la Comisión Técnica Mixta del Frente Marítimo

VOLUMEN 23 - ABRIL 2013

FRENTE MARÍTIMO



VOLUMEN 23 ABRIL 2013

Utilización de centros pigmentarios de *Sympterygia bonapartii* (Chondrichthyes, rajidae) como herramienta bioanalítica de contaminación

UIBRIG, ROMÁN; GALEANO, NOELIA; SCHWERDT, CARLA; MAS, JAVIER;
SARTUQUI, JAVIER; GUAGLIARDO, SILVIA; ACEBAL, FLORENCIA; PAOLILLO, MELISA
y TANZOLA, DANIEL

Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina

RESUMEN: Los centros pigmentarios (CPs) se han documentado en anfibios y peces. En estos últimos, aparecen después de la primera alimentación y consisten en la acumulación de pigmentos en células fagocíticas que se asocian con sinusoides y/o centros linfoides en el bazo, el hígado y el pronefros. Han sido utilizados como bioindicadores de contaminación en los peces. La raya marmorada, *Sympterygia bonapartii* (Müller & Henle, 1841), es un componente habitual del estuario de Bahía Blanca, ecosistema que ha sufrido diferentes presiones de impacto ambiental a lo largo de los últimos 15 años. Se trata de un condriectio bentónico ovíparo que desova en el estuario a fines de primavera y verano. Por sus hábitos bentónicos se lo considera un buen modelo para monitorear el impacto antropogénico en

el ecosistema estuarial. El objetivo principal de este estudio fue ensayar la utilización de los CPs de bazo e hígado de *Sympterygia bonapartii* como bioindicadores de calidad ambiental, bajo un modelo de tratamientocontrol, tomando a la Bahía San Blas como área control de referencia. Se detalló la estructura histológica de los CPs presentes en el bazo e hígado de *S. bonapartii*. Luego se compararon las posibles diferencias cuali y cuantitativas en los CPs debido a factores ambientales y no ambientales. Se analizaron un total de 52 ejemplares, 27 (20 hembras y 7 machos) se capturaron en el estuario de Bahía Blanca y 25 (16 hembras y 9 machos) en Bahía San Blas.

PALABRAS CLAVES: Histopatología, *Sympterygia bonapartii*, Centros pigmentarios.

USE OF PIGMENTARY CENTERS *Sympterygia bonapartii* (Chondrichthyes, Rajidae) AS A TOOL OF POLLUTION BIOANALYTICAL.

SUMMARY: The pigments centres (CPs) have been documented in amphibious and fish. On these last ones, they appear after the first feeding and consist in pigments accumulation of phagocytic cells that associate with sinusoid and/or lymphoid centres on spleen, liver and the pronefros. These have been used as pollution bioindicators on fish. The skate, *Sympterygia bonapartii* (Müller & Henle, 1841), is a usual specimen from Bahía Blanca's estuary, ecosystem that has suffered different environmental impact for the past 15 years. This is a bentonic oviparous condictrius which lays eggs in the estuary at the end of spring and summer. Due its bentonic habits, it's considered a fine model to monitor the men's impact on the estuarial

ecosystem. The main objective of this research was to rehearse the use of the spleen and liver's CPs of *Sympterygia bonapartii* as environmental bioindicators. This was made following a model of control treatment that takes Bahía San Blas as a referential control area. The histological structure of CPs in spleen and liver of *S. bonapartii* was determined. After this analysis, the possible qualitative and cuantitative differences due to environmental or no environmental influences were compared. A number of 52 individuals were analyzed from which 27 (20 females and 7 males) were brought from Bahía Blanca's estuary. The other 25 individuals (16 females and 9 males) were captured in Bahía San Blas.

KEY WORDS: Histopathology, *Sympterygia bonapartii*, pigments centres.

INTRODUCCIÓN

Los centros melanomacrofágicos (CMM) se han documentado en anfibios y peces. En estos últimos, aparecen después de la primera alimentación y consisten en la acumulación de pigmentos en células fagocíticas que se asocian con sinusoides y/o centros linfoides en el bazo, el hígado y pronefros (Agius, 1981). Han sido utilizados como biomarcadores de contaminación en los peces (Khan *et al.*, 1994; Couillard y Hodson, 1996).

Estos acúmulos de células fagocíticas, contienen diferentes pigmentos intracitoplasmáticos incluyendo melanina, ceroides, lipofuscina y hemosiderina (Wolke, 1992). Las funciones postuladas para los CMM son asimilables a la respuesta inmune no-específica de los vertebrados superiores, que abarca las células del sistema fagocítico (Roberts, 1975).

La abundancia y características morfológicas de CMM pueden estar influenciadas por diversos factores, entre ellos cambios en los parámetros fisiológicos y condiciones patológicas (Haaparanta

UTILIZACIÓN DE CENTROS PIGMENTARIOS DE *Sympterygia bonapartii*...

Ubrig, Román - Galeano, Noelia - Schwerdt, Carla - Mas, Javier - Sartuqui, Javier - Guagliardo, Silvia - Acebal, Florencia - Paolillo, Melisa - Tanzola, Daniel

et al., 1996), edad (Agius, 1981; Brown & George, 1985; Mikaelian *et al.*, 1998), la especie de pez; su estado nutricional y grado de catabolismo tisular (Micale y Perdichizzi, 1990; Wolke, 1992; Montero *et al.*, 1999; Manera *et al.*, 2000), impacto de estrés térmico (Blazer *et al.*, 1987), necrosis, infecciones y hemólisis (Roberts, 1975; Agius y Agbede, 1984; Wolke *et al.*, 1985b; Spazier *et al.*, 1992; Couillard *et al.*, 1999; Russo *et al.*, 2007). Esto implica el abordaje anatómo-patológico mediante un análisis profundo y detallado de las muestras obtenidas.

Sympterygia bonapartii (Müller & Henle, 1841) (nv: raya marmorada) es un componente habitual del estuario de Bahía Blanca, ecosistema que ha sufrido diferentes tipos de impacto ambiental a lo largo de los últimos 15 años. Se trata de un condrictio bentónico ovíparo, cuya talla de primera madurez para las hembras es de 65 cm y de 63,6 cm LT para los machos. El desove en el estuario se produce a fines de primavera y verano. Por sus hábitos bentónicos se lo considera un buen modelo para monitorear el impacto antropogénico en el ecosistema estuarial.

Este estudio contribuye a la búsqueda de biomarcadores de contaminación por medio de análisis histopatológicos bajo un modelo de tratamiento-control, tomando a la Bahía San Blas como área control de referencia. Para ello se han planteado los siguientes objetivos:

El objetivo general de este estudio, es probar la utilización de los CMM de bazo e hígado de *Sympterygia bonapartii* como biomarcadores, por medio de técnicas histológicas

ESPECÍFICOS:

- Detallar la estructura histológica de los CMM presentes en el bazo e hígado de *S. bonapartei*.
- Definir citológica y morfométricamente los conjuntos celulares de los CMM.
- Comparar posibles diferencias cuali y cuantitativas en los CMM debido a factores ambientales y no ambientales (cargas parasitarias).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las áreas de pesca seleccionadas fueron el estuario de Bahía Blanca y la Bahía San Blas, ambas zonas pertenecientes a la provincia de Buenos Aires. El arte de pesca utilizada fue una línea de anzuelos para las dos zonas de muestreo. Para ambos sexos se obtuvo el peso total en gramos y la longitud total en mm. Se realizaron la disección de los peces inmediatamente *post mortem*. Se tomaron muestras de bazo e hígado, las que se fijaron en líquido de Bouin. Luego se realizaron técnicas histológicas usando como coloración topográfica H-E, blanqueamiento de la melanina (*bleaching*) y técnica del azul de Perls. Se utilizó MO y análisis digital por medio del programa de imágenes Motic Images Plus

2.0. Se tomaron datos del diámetro promedio de los centros y de las células melanomacrofágicas promedio, el número promedio de CMM y melanomacrofagos presentes en cada uno de ellos.

Se emplearon métodos de estadística descriptiva para los parámetros histológicos (media, desvío estándar, rango) y tests no paramétricos de Mann Whitney y de correlación por rangos de Spearman (Siegel & Castellan, 1995), comparando los grupos de individuos acorde con el sexo y para cada zona y época de muestreo.

RESULTADOS

Se estudió un total de 52 ejemplares de *Sympterygia bonapartii*, nv: raya marmorada, de las cuales 27 (20 hembras y 7 machos) se capturaron en el estuario de Bahía Blanca y 25 (16 hembras y 9 machos) en Bahía San Blas. De cada ejemplar se obtuvieron datos de sexo, longitud total, ancho del disco, peso total y número de parásitos internos. No se observaron ejemplares con lesiones macroscópicas externas o internas de importancia. Los datos se pueden apreciar en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Variables biológicas de rayas del Estuario de Bahía Blanca (n=27)

	LT	AD	PT	NP
Promedio	43,91	29,67	898,82	10,11
Desvio est.	18,51	12,74	905,57	21,53
Varianza	342,56	162,39	820061,54	463,64
Coef. Disp.	7,80	5,47	912,37	45,85
Mediana	39,30	28,30	414,00	3,00
Máximo	70,00	48,00	2785,00	111,00
Mínimo	21,00	14,00	59,20	0,00

Tabla 2. Variables biológicas de rayas de Bahía San Blas (n=25)

	LT	AD	PT	NP
Promedio	50,77	34,79	914,32	9,08
Desvio est	7,23	4,57	327,95	12,44
Varianza	52,29	20,89	107553,89	154,83
Coef disp.	1,03	0,60	117,63	17,05
Mediana	51,50	35,00	930,00	4,00
Máximo	60,6	43,50	1451	59,00
Mínimo	30,8	21,00	200	0,00

Referencias: LT: Largo total; AD: Ancho del disco; PT: peso total; NP: Número de parásitos.

1. Parte descriptiva

Estructura esplénica

El bazo se halla situado en la cavidad corporal comprimida, es de color rojo a púrpura y de fácil visualización. Si se efectúa la disección por la zona ventral, éste se ubica por dorsal al hígado y sobre el borde interno del estómago. Presenta una estructura compacta (figura 5).

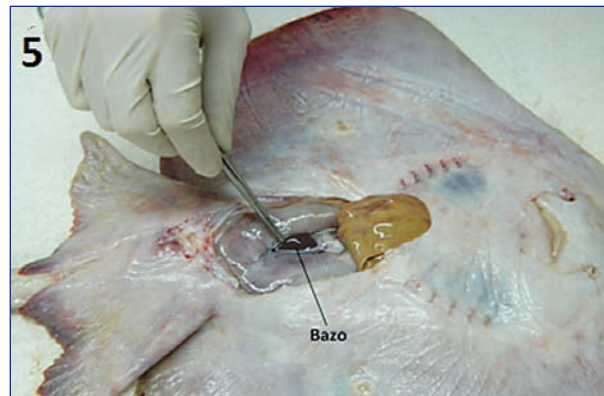


Figura 5. Vista ventral, disección de hembra, mostrando ubicación del bazo en cavidad corporal.

Histológicamente, los cortes de bazo coloreados con hematoxilina-eosina, mostraron una cápsula de tejido conectivo y un parénquima con regiones de pulpa roja y blanca sin disposición regular o sectorizada (Figura 6). No existe compartimentación, al contrario de los mamíferos en los cuales estas regiones están claramente definidas. En la pulpa blanca encontramos un alto contenido de células linfoides en cercanías o periferia de arteriolas, en algunos cortes se observó la presencia de células granulares eosinófilas de gran tamaño (6 μ m), hasta 4 por campo con aumento de 1000X (Figura 7) y melanomacrófagos (Figura 8). La pulpa roja posee una abundante cantidad de tejido conectivo estroma y células que forman una red densa de color rosa más claro, con una proporción baja de células linfoides y alta de eritrocitos.

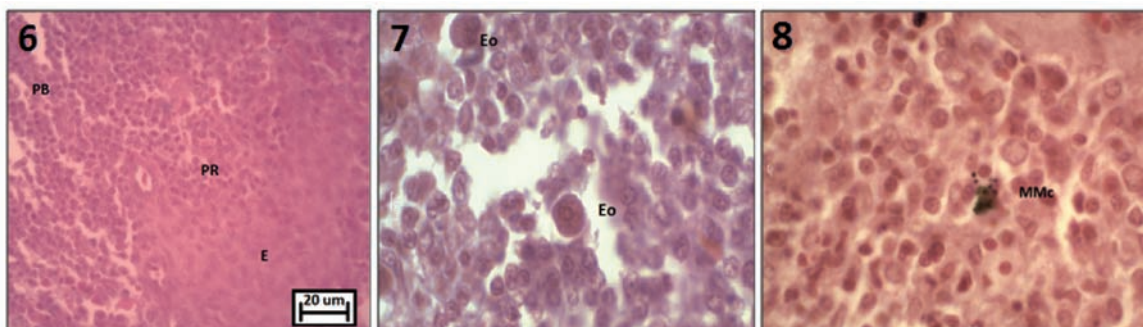


Fig. 6. Parénquima esplénico. **PB:** pulpa blanca; **PR:** pulpa roja; **E:** red densa. (400X).

Fig. 7. Detalle de células eosinófilas (**Eo**) en parénquima de bazo (1000X).

Fig. 8. Detalle de melanomacrófago (**MMc**) en parénquima de bazo (1000X).

Estructura hepática

El hígado está ubicado en la cavidad corporal comprimida, es de gran tamaño, color marrón oscuro, presenta dos grandes lóbulos laterales y un lóbulo pequeño intermedio. Al efectuar la disección por la zona ventral aparece a simple vista por encima de todos los órganos (Figura 9).

La estructura histológica del hígado de las rayas no presenta la tríada portal propia de los mamíferos. En diferentes zonas del parénquima hepático se encontraron conductos biliares, hepatocitos portando gránulos lipídicos, dispuestos en cordones alrededor de capilares (sinusoides), en cuyo lumen se aprecian eritrocitos. Los melanomacrófagos y centros pigmentados (CMM) se presentan en número variado (Figuras 10 y 11).

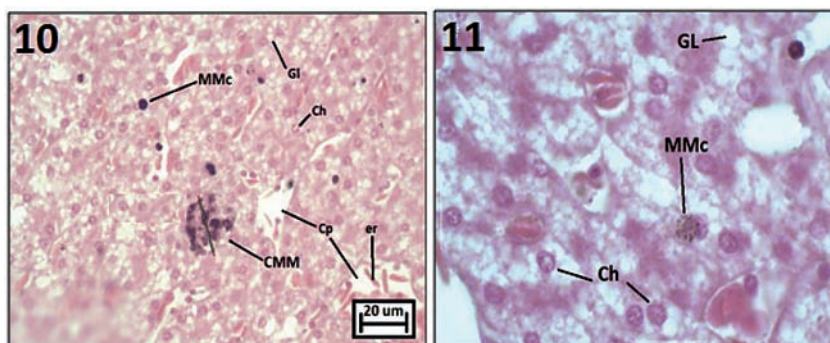
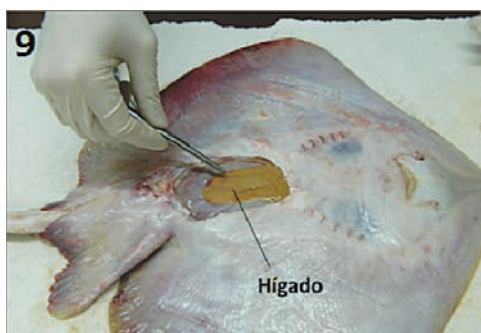


Fig. 9. Vista ventral, disección de hembra, mostrando ubicación del hígado en cavidad corporal.

Fig. 10. Parénquima hepático. **MMc:** melanomacrófago; **GL:** gránulo lipídico; **Ch:** célula hepática; **Cp:** capilar; **er:** eritrocito (H-E) (400X).

Fig. 11. Detalle de parénquima hepático. **MMc:** melanomacrófago; **GL:** granulo lipídico; **Ch:** célula hepática. (H-E) (1000X).

EXAMEN DESCRIPTIVO DE MELANOMACRÓFAGOS Y CENTROS MELANOMACROFÁGICOS (CMM)

La cuantificación y medición de los melanomacrófagos y CMM, de hígado y bazo de las dos poblaciones de rayas, se realizó sobre preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina, contabilizándose, con un

UTILIZACIÓN DE CENTROS PIGMENTARIOS DE *Sympterygia bonapartii*...

Ubrig, Román - Galeano, Noelia - Schwerdt, Carla - Mas, Javier - Sartuqui, Javier - Guagliardo, Silvia - Acebal, Florencia - Paolillo, Melisa - Tanzola, Daniel

aumento de 400X, diez campos al azar por corte de hígado y bazo en cada ejemplar. Se examinó un total de 1040 campos. Los resultados correspondientes a las muestras de Bahía Blanca se muestran en la Tabla 3; en tanto los de San Blas en la Tabla 4.

Tabla 3. Datos y estadística descriptiva de hígado y bazo de los ejemplares del Estuario de Bahía Blanca									
Datos	Bahía Blanca								
	Hígado						Bazo		
	Nº MMc	D MMc (µm)	S MMc (µm²)	Nº CMM apenas definidos	D CMM apenas definidos (µm)	S CMM (µm²)	Nº MMc	D MMc (µm)	S MMc (µm²)
Promedio	5,87	5,71	26,05	0,09	22,26	389	0,04	4,53	17,12
Desv.St.	4,19	1,26	-	0,39	15,04	-	0,070	0,81	-
Varianza	17,60	1,58	-	0,15	226,18	-	0,004	0,66	-
Coef disp.	3,00	0,28	-	1,73	10,16	-	0,108	0,14	-
Mediana	5,25	5,60	-	0,00	16,90	-	0	4,60	-
Máximo	17,00	8,60	58,08	2,00	44,34	1544	0,200	5,50	23,75
Mínimo	0	3,92	12,07	0	10,9	93,31	0	3,00	7,06

Referencias: **Nº MMc:** número de melanomacrófagos; **D MMc:** diámetro de melanomacrófagos; **S MMc (µm²):** Superficie de los melanomacrófagos; **Nº CMM apenas definidos:** número de centros melanomacrófágicos apenas definidos; **D CMM apenas definidos:** diámetro de centros melanomacrófágicos apenas definidos; **S CMM (µm²):** superficie de los centros melanomacrófágicos.

Tabla 4. Datos y estadística descriptiva de hígado y bazo de los ejemplares de Bahía San Blas									
Datos	Bahía San Blas								
	Hígado						Bazo		
	Nº MMc	D MMc (µm)	S MMc (µm²)	Nº CMM apenas definidos	D CMM apenas definidos (µm)	S CMM (µm²)	Nº MMc	D MMc (µm)	S MMc (µm²)
Promedio	7,68	5,86	26,97	0,04	34,61	940,7	0,01	5,23	21,48
Desv.St.	5,09	2,08	-	0,08	10,30	-	0,03	1,72	-
Varianza	25,87	4,32	-	0,01	106,12	-	0,00	2,97	-
Coef disp.	3,37	0,74	-	0,15	3,07	-	0,09	0,57	-
Mediana	6,60	5,25	-	0,00	28,75	-	0,00	4,90	-
Máximo	27,00	11,29	100,1	0,30	50,00	1963,4	0,10	7,10	39,59
Mínimo	0,00	3,10	7,55	0,00	24,50	471,43	0,00	3,70	10,75

Referencias: **Nº MMc:** número de melanomacrófagos; **D MMc:** diámetro de melanomacrófagos; **S MMc (µm²):** Superficie de los melanomacrófagos; **Nº CMM apenas definidos:** número de centros melanomacrófágicos apenas definidos; **D CMM apenas definidos:** diámetro de centros melanomacrófágicos apenas definidos; **S CMM (µm²):** superficie de los centros melanomacrófágicos.

Siguiendo la clasificación propuesta por Manera *et al.* (2000) los centros pigmentados se pueden agrupar en tres categorías: (1) Sin forma o melanomacrófagos (MMc), (2) CMM apenas definidos y (3) CMM bien definidos. La categoría "sin forma o MMc" comprende campos microscópicos (400x) con macrófagos pigmentados con melanina en número menor a dos por campo. La categoría de CMM apenas definidos consisten en campos cuyos melanomacrófagos están agrupados en número mayor a dos, pero sin encapsulación de tejido conectivo. Finalmente, cuando se habla de CMM bien definidos se hace referencia a aquellas agrupaciones de melanomacrófagos encapsulados en tejido conectivo.

En ambas áreas de estudio solo se encontraron MMc y CMM apenas definidos. En relación a los órganos estudiados, en el hígado se identificaron MMc y CMM apenas definidos, en tanto en el bazo sólo se reconocieron MMc. Los MMc y CMM de ambos órganos no presentaron encapsulamiento alguno por elementos de tejido conectivo, solo se detectó reacción positiva a la coloración tricrómica de Masson en los conductos hepáticos (figura 12) y en la pulpa roja del bazo (figura 13).

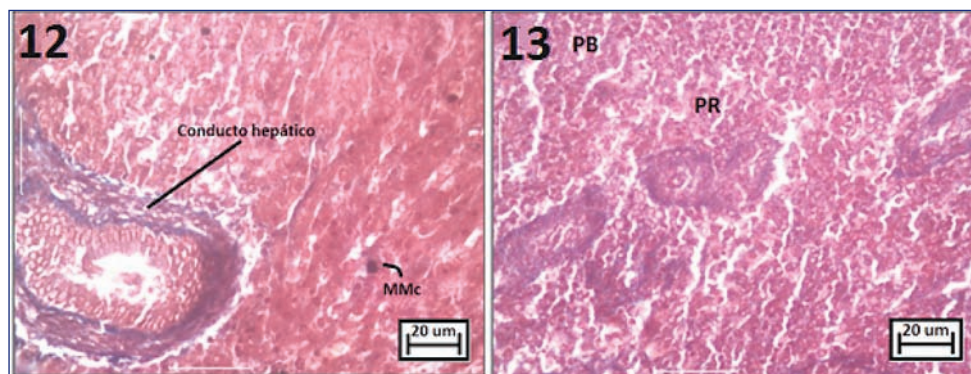


Fig. 12: Detalle de conducto biliar. **MMc:** melanomacrófago. Masson. (400X).

Fig. 13: Detalle de bazo. **PB:** pulpa blanca. **PR:** pulpa roja. Masson. (400X).

Tipos MMc y CMM del hígado

Para las muestras de hígado examinadas en ambas áreas de estudio, se obtuvo que el número y diámetro promedio de los MMc, no presentaron diferencias significativas. En cuanto a los CMM apenas definidos, se encontró mayor abundancia y conteos máximos en el estuario de Bahía Blanca. Por último los hígados de las rayas procedentes de la Bahía San Blas presentaron CMM de mayor tamaño promedio (Tablas 3 y 4).

Tipo MMc del bazo

En la cuantificación y caracterización de los MMc encontrados en los bazos, se halló en promedio un número casi cuatro veces mayor en las rayas procedentes del estuario de Bahía Blanca. Asimismo las muestras de Bahía San Blas presentaron MMc significativamente de mayor tamaño que las de Bahía Blanca.

UTILIZACIÓN DE CENTROS PIGMENTARIOS DE *Sympterygia bonapartii*...

Ubrig, Román - Galeano, Noelia - Schwerdt, Carla - Mas, Javier - Sartuqui, Javier - Guagliardo, Silvia - Acebal, Florencia - Paolillo, Melisa - Tanzola, Daniel

ENSAYOS HISTOQUÍMICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PIGMENTOS EN MMC Y CMM

Para esta fase de la investigación se tuvo en cuenta la detección de diferentes pigmentos componentes de células y centros pigmentados, empleando las técnicas histoquímicas de PAS, para lipofucsina/ceroide; Azul de Perls, para hemosiderina; y blanqueamiento o bleaching, para melanina.

Lipofucsina/ceroide

En el hígado de los ejemplares procedentes de ambas zonas de muestreo, no se observó reacción positiva al ácido peryódico de Schiff en los MMC ni en CMM, como así tampoco en los MMC del bazo.

Hemosiderina

La técnica del Azul de Perls se basa en la capacidad que posee el ferrocianuro potásico, para formar complejos con el hierro (férrico), dando como resultado ferrocianuro férrico o azul de Prusia por acción del ácido clorhídrico que desencadena la reacción. En nuestro estudio, no se observó reacción positiva en los MMC de ambos órganos, ni tampoco en los CMM de hígado. Solo se pudieron apreciar discretos complejos de hierro en algunos hepatocitos (Figura 14) pero no en el bazo.

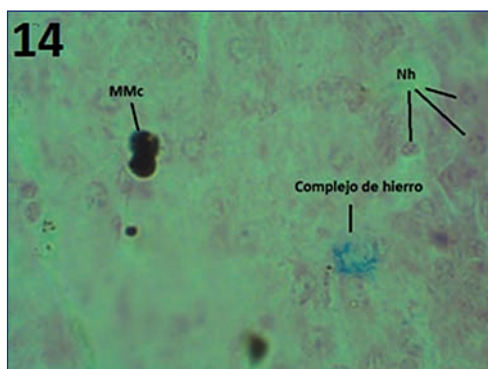


Fig. 14. Detalle corte de hígado. **MMc:** melanocrofago. **Nh:** núcleo de hepatocito. Azul de Perls. (1000X).

Melanina

Se aplicó la técnica del blanqueamiento o bleaching para la identificación de melanina en los MMC y CMM. Luego de 18 horas continuas de incubación en H_2O_2 de 100 volúmenes, se observó que los MMC de ambos órganos estudiados y CMM del hígado arrojaron resultados positivos al decolorarse en su totalidad (Figura 15, sin tratar y figura 16 tratado), al igual que en el testigo positivo (tegumento de rana toro, *Lithobates catesbeianus*) (Figura 13 sin tratar y Figura 14 tratado).

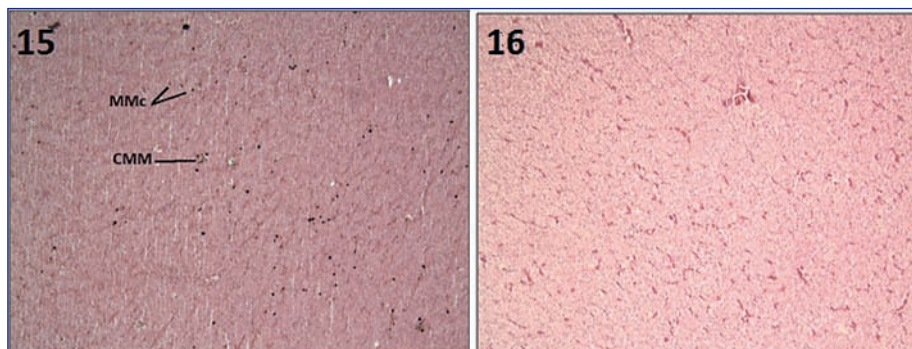


Fig. 15. Parénquima de hígado. **MMc:** melanomacrófago. **CMM:** centro melanomacrófico. Sin tratamiento. H-E. (100X).

Fig. 16. Parénquima de hígado tratado con H_2O_2 durante 18hs. H-E. (100X).

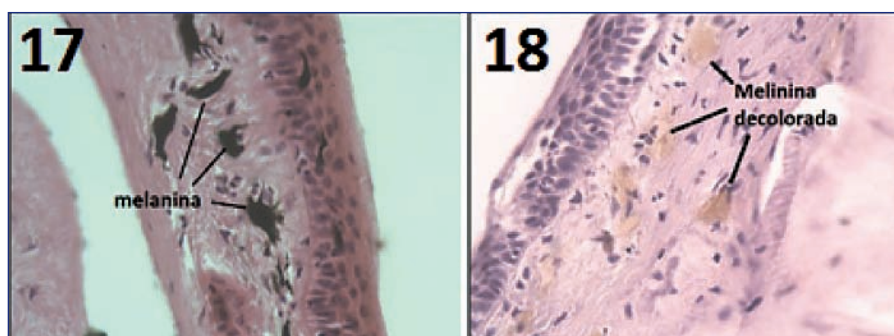


Fig. 17. Tegumento de rana toro (control positivo) sin tratamiento. H-E.(400X).

Fig. 18. Tegumento de rana toro (control positivo) tratado. H_2O_2 18hs. H-E. (400X).

II) Análisis estadístico

En el presente estudio se estableció como objetivo detectar diferencias significativas entre las abundancias, frecuencias (prevalencia), tamaños y tipos de centros y células pigmentadas presentes en el hígado y bazo de dos poblaciones de rayas *S. bonapartii*, sometidas a diferentes condiciones de stress ambiental. Antes de identificar estas diferencias entre las poblaciones, se evaluaron variables morfométricas y biológicas de talla, peso y carga parasitaria, dentro de cada población (entre machos y hembras). Esto permitió evaluar la homogeneidad de cada población con respecto a sus variables biológicas propias.

En primera instancia se procedió a la identificación de correlaciones entre las variables biológicas cuantitativas en cada población.

En Bahía Blanca, el número total de parásitos dio correlación significativa, pero con valores inferiores a $r_s = 0,40$, respecto a talla y peso total (Tabla 5). El número de MMc en hígado no arrojó correlación

UTILIZACIÓN DE CENTROS PIGMENTARIOS DE *Sympterygia bonapartii*...

Ubrig, Román - Galeano, Noelia - Schwerdt, Carla - Mas, Javier - Sartuqui, Javier - Guagliardo, Silvia - Acebal, Florencia - Paolillo, Melisa - Tanzola, Daniel

significativa. En San Blas no hubo ninguna correlación entre estas variables (Tabla 6). Por lo tanto, teniendo en cuenta que los valores de correlación en Bahía Blanca fueron bajos y su significación se halla muy próxima al límite de rechazo de la hipótesis nula ($\alpha=0,05$), y que tampoco se verificó asociación estadística con ninguna de estas variables en San Blas, se puede considerar que en la muestra estudiada, ni el peso ni la talla son predictores confiables de la carga parasitaria ni esta del número de MMc hepáticos.

Tabla 5. Test de Correlación de Spearman. Estuario de Bahía Blanca

Variables	LT	AD	PT	NP	N MMc H	D MMc H
LT	1	$r_s=0,993^{**}$	$r_s=0,992^{**}$	$r_s=0,391^*$	$r_s=0,1680$	$r_s=0,0030$
AD	$p=0,000$	1	$r_s=0,994^{**}$	$r_s=0,392^*$	$r_s=0,1630$	$r_s=-0,022$
PT	$p=0,000$	$p=0,000$	1	$r_s=0,385^*$	$r_s=0,1270$	$r_s=-0,041$
NP	$p=0,044$	$p=0,043$	$p=0,047$	1	$r_s=-0,264$	$r_s=-0,200$
N MMc H	$p=0,403$	$p=0,417$	$p=0,528$	$p=0,184$	1	$r_s=0,381^*$
D MMc H	$p=0,990$	$p=0,915$	$p=0,841$	$p=0,317$	$p=0,05$	1

Tabla 6. Test de Correlación de Spearman. Bahía San Blas

Variables	LT	AD	PT	NP	N MMc H	D MMc H
LT	1	$r_s=0,812^{**}$	$r_s=0,953^{**}$	$r=0,291$	$r=0,203$	$r_s=0,519^{**}$
AD	$p=0,000$	1	$r=0,806^{**}$	$r=0,215$	$r=0,303$	$r_s=0,308$
PT	$p=0,000$	$p=0,000$	1	$r=0,247$	$r=0,196$	$r_s=0,441^*$
NP	$p=0,158$	$p=0,302$	$p=0,234$	1	$r=0,166$	$r_s=0,151$
N MMc H	$p=0,332$	$p=0,142$	$p=0,348$	$p=0,428$	1	$r_s=0,476^*$
D MMc H	$p=0,008$	$p=0,135$	$p=0,027$	$p=0,470$	$p=0,016$	1

Referencias: **N° MMc H:** número de melanomacrófagos en hígado; **D MMc H:** diámetro de melanomacrófagos en hígado; **N° CMM** apenas definidos: número de centros melanomacrófágicos apenas definidos; **D CMM** apenas definidos: diámetro de centros melanomacrófágicos apenas definidos; **NP:** Número de parásitos; **LT:** Largo total; **AD:** Ancho del disco; **PT:** peso total.

Por otra parte, las Tablas 8 y 9 indican que no hubo diferencias significativas, respecto de las variables biológicas, entre ambos sexos "dentro" de cada área muestreada. Por ello, para reforzar el análisis comparativo "entre zonas" se tuvieron en cuenta ambos sexos en conjunto, aumentando la "n" muestral, ver Tabla 10.

Tabla 7. Prueba U de Mann Whitney entre machos y hembras del Estuario de Bahía Blanca

Variables	Coefficiente U	p
LT	40,5	0,103
AD	36,5	0,063
PT	35	0,053
NP	48	0,219
N MMc H	60	0,58
D MMc H	51	0,293

Tabla 8. Prueba U de Mann Whitney entre machos y hembras de Bahía San Blas

Variables	Coefficiente U	p
LT	43,5	0,10
AD	55,5	0,35
PT	41	0,07
NP	57,5	0,41
N MMc H	65,5	0,71
D MMc H	48,5	0,18

Tabla 9. Prueba U de Mann Whitney entre el Estuario de Bahía Blanca y Bahía San Blas

Variables	Coefficiente U	p
LT	275	0,252
AD	274,5	0,248
PT	283	0,318
NP	290	0,382
N MMc H	233,5	0,057
D MMc H	309,5	0,608

Referencias: **N° MMc H:** número de melanomacrófagos en hígado; **D MMc H:** diámetro de melanomacrófagos en hígado; **N° CMM** apenas definidos: número de centros melanomacrófágicos apenas definidos; **D CMM** apenas definidos: diámetro de centros melanomacrófágicos apenas definidos; **NP:** Número de parásitos; **LT:** Largo total; **AD:** Ancho del disco; **PT:** peso total.

No se registran diferencias significativas en los números de MMc hepáticos entre ambas poblaciones. Sin embargo, en razón de que el valor del estadístico (U Mann Withney= 233,5; $\alpha=0,057$) puede verse afectado por el número de ejemplares examinados, a futuro se torna necesario investigar un mayor número de individuos a efectos de resolver esta disyuntiva.

UTILIZACIÓN DE CENTROS PIGMENTARIOS DE *Sympterygia bonapartii*...

Ubrig, Román - Galeano, Noelia - Schwerdt, Carla - Mas, Javier - Sartuqui, Javier - Guagliardo, Silvia - Acebal, Florencia - Paolillo, Melisa - Tanzola, Daniel

Las Tablas 10 y 11 señalan los valores de prevalencia, intensidad y abundancia de CMM de hígado y MMc de bazo para cada población. En los 3 estimadores se registraron valores muy bajos para ambas variables. Las prevalencias de CMM del hígado no resultaron significativamente diferentes en ambas zonas de muestreo (Estadístico $Z=1,66$, $p>0,05$). En cuanto a los MMc de bazo podemos indicar que los estimadores poblacionales son mucho más altos en la población del estuario de Bahía Blanca ($Z=3,097$, $p<0,01$).

Tabla 10. Estimadores Poblacionales calculados para los CMM de hígado de las áreas de muestreo

Estimadores	CMM de hígado	
	Bahía Blanca	Bahía San Blas
Prevalencia	14,815	28,000
Abundancia	0,085	0,044
Intensidad Media	1,25	1,00

Tabla 11. Estimadores Poblacionales calculados para los MMc de bazo de las áreas de muestreo.

Estimadores	MMc de bazo	
	Bahía Blanca	Bahía San Blas
Prevalencia	37,037	12,000
Abundancia	0,048	0,012
Intensidad Media	1,00	1,00

DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó por primera vez la utilización de células y centros pigmentados (CMM y MMc) de bazo e hígado de *Sympterygia bonapartii* (Chondrichthyes, Rajidae) como bioindicador de contaminación, detallando la citología, morfometría y posibles diferencias cuali y cuantitativas entre dos poblaciones sometidas a diferentes condiciones de impacto ambiental.

En promedio las tallas de las rayas capturadas, estuvieron por debajo de la talla de la primera madurez para ambos sexos. Sus valores fueron 48,2 (22,5-70) cm de longitud total (LT) para las hembras y 45,0 (21-67,6) cm para los machos. Las tallas de la primera madurez sexual para esta especie ha sido

estimado en 63,6 cm en hembras y 65 cm en machos; en tanto las longitudes máximas registradas son de 88 cm para hembras y 74,6 cm para machos (Mabragana *et al.*, 2002). Cabe destacar que para las dos zonas de muestreo se capturaron mayor número de hembras que de machos.

En lo que respecta a la estructura histológica esplénica en general, no se encontraron alteraciones patológicas ni cambios degenerativos que llamen la atención, a diferencia de otros trabajos con elasmobranquios, en los que se han hallado necrosis por infecciones bacterianas multifocales y microtrombosis (Borucinska *et al.*, 2009). La distribución del parénquima en pulpa blanca y roja, y esta última con estructuras elipsoides, es similar a la documentadas en *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae) en los que se observa además, la presencia de macrófagos y melanomacrófagos (Galíndez & Aggio, 1998). Es de destacar que solo en algunos bazos se observó la presencia de un alto número de células granulares eosinófilas (hasta 4 por campo con 1000x), fenómeno que no ha sido reportado para esta especie de raya y por el momento no es posible explicar cuál es su rol.

Por otro lado, la estructura hepática de todas las muestras de *S. bonapartii*, en general no mostró anomalía alguna pero una gran semejanza con el hígado de la raya simpátrica *S. acuta* en el que se hallaron las mismas estructuras celulares (Díaz-Andrade, 2006), difiriendo en la ausencia de parásitos ubicados en los conductos biliares.

Uno de los aportes más interesantes de nuestro ensayo, radicó en establecer el número y diámetro de los MMc de bazo e hígado y los CMM del hígado de *Sympterygia bonapartii*. Estos antecedentes y características documentados servirán en parte para mitigar la falta de conocimiento al respecto (Haaparanta *et al.*, 1996; Fournie *et al.*, 2001) y la insuficiencia de datos, sugeridos como “*data deficient*”, por la IUCN (2004) para esta especie.

En un principio la denominación “centros melanomacrófágicos” (CMM) fue relacionada con los peces teleósteos (Ellis, 1974; Roberts, 1975). Luego se describieron estructuras análogas en peces óseos primitivos y cartilaginosos, encontrándose principalmente en el hígado (Agius, 1980). Estos antecedentes concuerdan con nuestros resultados, en los que se halló la existencia de estos solo en el hígado.

En el análisis descriptivo de MMc y CMM se utilizó la clasificación sugerida por Manera *et al.* (2000), utilizada para el teleósteo marino *Sparus aurata*. Partiendo de esta clasificación, también utilizada en otro trabajo con elasmobranquios (Borucinska *et al.*, 2009), se concluyó que de las tres estructuras mencionadas en tales antecedentes, solo dos se identificaron en nuestro estudio. Estas fueron: “sin forma” o melanomacrófagos (MMc), presentes en ambos órganos y “centros melanomacrófágicos apenas definidos” (CMM) que únicamente fueron encontrados en el hígado.

Los MMc del bazo de las dos poblaciones de *S. bonapartii* hallados en nuestro estudio (Tabla 12) se encuentran en menor abundancia promedio que en otros elasmobranquios documentados, siendo su superficie asimilable (Borucinska *et al.* 2009).

Por otro lado, la disposición de MMc en el estroma del hígado de *S. bonapartii* para ambas zonas de muestreo fue al azar, similar al escenario encontrado en otros elasmobranquios del Océano

UTILIZACIÓN DE CENTROS PIGMENTARIOS DE *Sympterygia bonapartii*...

Ubrig, Román - Galeano, Noelia - Schwerdt, Carla - Mas, Javier - Sartuqui, Javier - Guagliardo, Silvia - Acebal, Florencia - Paolillo, Melisa - Tanzola, Daniel

Atlántico Noroccidental. Pero en lo que respecta al número y superficie promedio de los MMc (Tabla 12) descubrimos que estos son menos numerosos y más pequeños que los MMc expuestos en los citados antecedentes (Borucinska *et al.*, 2009). Tales diferencias citométricas entre taxas han sido documentadas en otras especies (Haaparanta *et al.*, 1996). En ellas se aprecia, además del mayor número y superficie, el hallazgo de patologías internas en el hígado. A diferencia de Borucinska *et al.* (2009), en nuestro estudio se encontraron agregados con más de dos células pigmentadas o CMM sólo en el hígado.

Tabla 12. Datos comparativos del número de MMc y sus superficies en diferentes elasmobranquios

	Nº MMc		S MMc (µm²)	
	Bazo	Hígado	Bazo	Hígado
<i>S. bonapartii</i> B.B.	0,04 (0-0,20)	5,87 (0-17)	17,12 (23,73-7,06)	26,05 (58,08-12,07)
<i>S. bonapartii</i> S.B.	0,01 (0,00-0,10)	7,68 (0,00-27,00)	21,48 (10,75-39,59)	26,97 (7,55-100,1)
<i>Prionace glauca</i> ("tiburón azul")	3,85 (0,7-15,9)	9,18 (4,4-16,2)	26,39 (10,00-109,00)	39,30 (24,88-60,09)
<i>Isurus oxyrinchus</i> (tiburón macko")	21,14 (0,73-40,53)	7,90 (6,13-12,4)	20,05 (7-35,84)	69,12 (58,96-83,8)
<i>Alopias vulpinus</i> (tiburón zorro")	18,06 (3,53-66,27)	12,30 (5,53-34,27)	26,10 (16,4-57,52)	56,20 (40,5-73,1)

Referencias: Nº MMc: número de melanomacrófagos; S MMc (µm²): Superficie de los melanomacrófagos; **B.B.:** Bahía Blanca; **S.B.:** San Blas.

En los MMc y CMM hallados en nuestras muestras, no se localizaron microorganismos intracitoplasmáticos, como los presumibles microsporidios encontrados en MMc hepáticos de tres especies de elasmobranquios de edad adulta o seniles (Borucinska *et al.*, 2009). Esta situación apoya la hipótesis de que los MMc cumplen un rol importante en la presentación de antígenos (Johnson *et al.*, 2005).

Solo se halló una raya con alto número de CMM (promedio de 2 por campo, con 400x de aumento) y MMc (promedio de 12,1 por campo, con 400x de aumento) en hígado. Los diámetros de ambas estructuras también fueron superiores siendo 8,6 µm para los MMc y 44,34 µm para los CMM. Esta raya era un macho inmaduro de 24 cm LT del estuario de Bahía Blanca que no presento parásitos internos, MMc en bazo ni lesiones macroscópicas de gran interés. Estos datos no poseen importancia estadística significativa, pero pueden ser tomados en cuenta para futuras investigaciones.

En la identificación de pigmentos debemos destacar la reacción positiva de la técnica de blanqueamiento en MMc de bazo e hígado, y CMM de hígado. Esta indica la decoloración de la melanina por medio del agente oxidante (agua oxigenada de 100 volúmenes), destacando como pigmento predominante a la melanina. Se puede sugerir que este pigmento participa de la neutralización de radicales libres del cuerpo (Agius & Agbede, 1984) o tal vez se esté utilizando como principal mecanismo bactericida no enzimático (Wolke *et al.*, 1985a). Nuestros resultados son similares a los encontrados en *Prionace glauca* (tiburón azul), *Isurus oxyrinchus* (tiburón mako) y *Alopias vulpinus* (zorro marino), con la diferencia de la presencia en cantidades menores de lipofucsina (Borucinska *et al.*, 2009). También se ha mencionado la presencia de melanomacrófagos en órganos de otros peces cartilaginosos, tales como en el hígado de *S. acuta* (Díaz-Andrade, 2006) y en el bazo de *M. schmitti* (Galíndez & Aggio, 1998).

Respecto de los resultados de la técnica de Azul de Perls¹, debemos decir que no se hallaron reacciones positivas en los MMc de hígado y bazo ni en los CMM de hígado, pese a haberse hallado reacción positiva en algunos hepatocitos. Nuestros resultados presentan gran similitud con los alcanzados por Borucinska *et al.* (2009) y Agius (1979a, 1983). Por otra parte apoya la hipótesis de que los hígados de los cartilaginosos poseen alto contenido de hierro (Hornung *et al.*, 1993) y contradice la propuesta de que el bazo de esta clase de peces participa en el reciclaje del hierro (Pulsford *et al.*, 1982; Bodammer *et al.*, 1990). Esto último es similar a lo ocurrido en los teleósteos, en los que la hemosiderina está limitada a los CMM presentes en el bazo (Agius 1979a, 1981, 1985).

De ser válida la premisa de que las poblaciones bajo estudio son residentes de cada área y no interactúan entre sí, podemos vislumbrar la existencia de diferencias en la reactividad inmune entre ambas zonas de muestreo. Esta diferencia radica en los valores de MMc presentes en el bazo de *S. bonapartii*, que, al igual que la baja prevalencia de CMM en el hígado para ambas áreas, estarían evidenciando alteraciones del sistema inmune innato. Quedó demostrado que no existe correlación alguna de la reactividad de estas células pigmentadas con el número de parásitos internos y tampoco con lesiones internas o externas observables. Esta alteración podría estar causada por algún tipo de stress ambiental que no fue posible detectar con los datos procesados en este estudio. Tal alteración se pondría a prueba en experimentos de ecotoxidad con variables totalmente controladas. Varias de estas pruebas ya se han realizado en teleósteos con buenos resultados. Manera *et al.* (2000), han realizado el estudio de las variaciones en número y pigmentos de los macrófagos agregados (MA) de *Sparus aurata*, provocadas por dietas enriquecidas con hierro, cobre y zinc. Estos autores hallaron diferencias significativas en el número de MA del bazo. En otros estudios, se han analizado las variaciones en el número de CMM hepáticos en condiciones de ayuno prolongado del pez de agua dulce *Hoplias malabaricus* (tararira), observándose variaciones significativas en número, tamaño y concentración de pigmentos (Rios *et al.*, 2007).

¹ Técnica de mayor importancia para la detección de hierro, ya que el hierro férrico (presente en hemosiderina) es el más abundante en los tejidos (García del Moral, 1993).

UTILIZACIÓN DE CENTROS PIGMENTARIOS DE *Sympterygia bonapartii*...

Ubrig, Román - Galeano, Noelia - Schwerdt, Carla - Mas, Javier - Sartuqui, Javier - Guagliardo, Silvia - Acebal, Florencia - Paolillo, Melisa - Tanzola, Daniel

Experiencias similares al presente estudio fueron realizadas con la corvina rubia, *Micropogonias furnieri*, dando como resultados alteraciones en el tamaño y número de gran significancia (Macchi *et al.*, 1992). Las alteraciones de estos estudios fueron atribuibles a la contaminación presente en las áreas muestreadas (Bahía Samborombón, costas de Uruguay, El Rincón). Cabe aclarar que en dicho estudio no se hace mención de las características ecológicas de la especie analizada, tales como períodos de residencia, nicho ecológico o migraciones, que para nuestro entender son de vital importancia en ensayos basados en modelos de áreas tratamiento-control.

Este estudio se realizó con el fin de validar la aplicación de macrófagos pigmentados como indicador del estado de salud de *S. bonapartii*, el cual a su vez podría ser utilizado como bioindicador del estado del ecosistema en el que se desarrolla. Esta clase de estudio formaría parte de la vigilancia a gran escala de la salud de los ecosistemas marinos mundiales (Wolke *et al.* 1985a, b; Lindesjö *et al.*, 1996; Fournie *et al.*, 2001).

BIBLIOGRAFÍA

- AGIUS C. (1979A) Aspects of the melano-macrophage centres in fish. PhD Thesis, University of Stirling.
- AGIUS C. (1980) Phylogenetic development of melano-macrophage centres in fish. *Journal of Zoology*, London 191, 11–31.
- AGIUS C. (1981) Preliminary studies on the ontogeny of melanomacrophages of teleost hemopoietic tissues and age-related changes. *Developmental and Comparative Immunology* 5, 597–606.
- AGIUS C. (1983) On the failure to detect haemosiderin in the melano-macrophages of the dogfish *Scylorhinus canicula* (Linnaeus) after prolonged starvation. *Experientia* 39, 64–67.
- AGIUS C. y AGBEDE S.A. (1984) An electron microscopic study on the genesis of lipofuscin, melanin and haemosiderin in the hemopoietic tissues of fish. *Journal of Fish Biology* 24, 471–488.
- AGIUS C. (1985) The melano-macrophage centres in fish: a review. In: *Fish Immunology* (ed. by M.J. Manning & M.F. Tatner), pp. 85–105. Academic Press, London.
- BLAZER V.S.; WOLKE R.E.; BROWN J.; POWELL C.A. (1987) Piscine macrophage parameters as health monitors: effects of age, sex, relative weight, season, and site quality in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquatic Toxicology* 10, 199–215.
- BODAMMER J.E.; ANDERSON D.P.; DIXON O.M. (1990) Ultrastructure of the spleen and head kidney of the striped bass. *Journal of Aquatic Animal Health* 2, 182–193.
- BORUCINSKA J.D.; KOTRAN K.; SHACKETT M. ; T BARKER (2009) Melanomacrophages in three species of free-ranging sharks from the northwestern Atlantic, the blue shark *Prionace glauca* (L.), the shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, and the

- thresher, *Alopias vulpinus* (Bonnaterre). *Journal of Fish Diseases* 32, 883–891.
- BROWN C.L. y GEORGE C.J. (1985) Age-dependent accumulation of macrophage aggregates in the yellow perch, *Perca flavescens* (Mitchill). *Journal of Fish Diseases* 8, 135–138.
- COUILLARD C.M.; WILLIAMS P.J.; COURTENAY S.C.; RAWN G.P. (1999) Histopathological evaluation of Atlantic tomcod (*Microgadus tomcod*) collected at estuarine sites receiving pulp and paper mill effluent. *Aquatic Toxicology* 44, 263–278.
- DIAZ ANDRADE, M.C. (2006) Aspectos morfohistológicos del ovario de *Sympterygia acuta* Garman, 1877 (Chondrichthyes, Rajidae). Tesina de Licenciatura en Ciencias Biológicas.
- ELLIS A.E. (1974). Aspects of the lymphoid and reticulo-endothelial system in the plaice *Pleuronectes platessa* L. PhD Thesis, University of Aberdeen.
- FOURNIE J.W.; SUMMERS J.K.; COURTNEY L.A.; ENGLE V.D.; BLAZER V.S. (2001) Utility of splenic macrophage aggregates as an indicator of fish exposure to degraded environments. *Journal of Aquatic Animal Health* 13, 105–116.
- GALÍNDEZ E.J. y AGGIO M.C., (1998) The spleen of *mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae): A light and electron microscopic study. *Ichthyological Research* 45 (2), 179–186.
- GARCIA DEL MORAL R. (1993) Laboratorio de anatomía patológica. McGraw-Hill/Interamericana. Madrid. pp 672.
- HAAPARANTA A.; VALTONEN E.T.; HOFFMANN R.; HOLMES J. (1996) Do macrophage centers in freshwater fishes reflect the difference in water quality? *Aquatic Toxicology* 34, 253–272.
- HORNUNG H.; KROM M.D.; COHEN Y.; BERNHARD M. (1993) Trace metal content in deep-water sharks from the eastern Mediterranean Sea. *Marine Biology* 115, 331–338.
- JOHNSON J.C.; NETTIKADAN S.R.; VENGASANDRA S.G.; LOVAN S.; MUYS J.; HENDERSON E.; CHRISTIANSEN J. (2005) Characterization of testudine melanomacrophage linear, membrane extension processes – cablepodia – by phase and atomic force microscopy. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal* 41, 225–231.
- KHAN R.A.; BARKER D.E.; HOOPER R.; LEE E.M.; RYAN K.; NAG K. (1994) Histopathology in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) living adjacent to a pulp and paper mill. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 26, 95–102.
- MABRAGANA, E.; LUCIFORA, L.; MASSA, AM (2002). La ecología de la reproducción y la abundancia de *Sympterygia bonapartii* endémico en el suroeste del Atlántico. *Diario de biología de los peces*. 60 (4), 951–967.
- MACCHI G.J.; ROMANO L.A.; CHRISTIANSEN H.E. (1992) Melanomacrophage centers in whitemouth croaker, *Micropogonias furnieri*, as biological indicators of environmental changes. *Journal of Fish Biology* 40, 971–973.
- MANERA M.; SIERRA R.; ISANI G.; CARPENE´ E. (2000) Macrophage aggregates in gilthead bream fed copper, iron and zinc enriched diets. *Journal of Fish Biology* 57, 457–465.
- MICALE V. Y PERDICHIZZI F. (1990) A quantitative and histochemical study on

UTILIZACIÓN DE CENTROS PIGMENTARIOS DE *Sympterygia bonapartii*...

Ubrig, Román - Galeano, Noelia - Schwerdt, Carla - Mas, Javier - Sartuqui, Javier - Guagliardo, Silvia - Acebal, Florencia - Paolillo, Melisa - Tanzola, Daniel

- melano-macrophage centers in the spleen of the teleost fish *Diplodus annularis* L. *Journal of Fish Biology* 37, 191–197.
- MIKAELIAN I.; DE LAFONTAINE Y.; MÉNARD C.; TELLIER P.; HARSHBARGER J.; MARTINEAU D. (1998) Neoplastic and nonneoplastic hepatic changes in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) from the St. Lawrence River, Quebec, Canada. *Environmental Health Perspectives* 106, 179–183.
- MONTEROD;BLAZERV.S.;SOCORROJ.;IZQUIERDO M.S.; TORT L. (1999) Dietary and culture influences on macrophage aggregate parameters in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 179, 523–534.
- PULSFORD A.; FANGE R.; MORROW W.J.W. (1982) Cell types and interactions in the spleen of the dogfish *Scyliorhinus canicula* L.: an electron microscopy study. *Journal of Fish Biology* 21, 649–662.
- RIOS F. S.; DONATTI L.; FERNANDES M. N.; KALININ A. L.; RANTIN F. T. (2007) Liver histopathology and accumulation of melano-macrophage centres in *Hoplias malabaricus* after long-term food deprivation and re-feeding. *Journal of Fish Biology* 71, 1393–1406.
- ROBERTS R.J. (1975) Melanin-containing cells of teleost fish and their relation to disease. In: *The Pathology of Fishes* (ed. By W.E. Ribelin & G. Migaki), pp. 399–428. The University of Wisconsin Press, Madison, WI.
- RUSSO R.; YANONG R.P.E.; TERREL S.P. (2007) Preliminary morphometrics of spleen and kidney macrophage aggregates in clinically normal blue gourami *Trichogaster trichopterus* and freshwater angelfish *Pterophyllum scalare*. *Journal of Aquatic Animal Health* 19, 60–67.
- SPAZIER E.; STORCH V.; BRAUNBECK T. (1992) Cytopathology of spleen in eel *Anguilla anguilla* exposed to a chemical spill in the Rhine river. *Diseases of Aquatic Organisms* 14, 1–22.
- WOLKE R.E. (1992) Piscine macrophage aggregates: a review. *Annual Review of Fish Diseases* 2, 91–108.
- WOLKE R.E.; GEORGE C.J.; BLAZER V.S. (1985a) Pigmented macrophage accumulations (MMC; PMB): possible monitors of fish health. In: *NOAA Technical Report, NMFS 25, Parasitology and Pathology of Marine Organisms of the World Ocean* (ed. by J. Hargis Jr), pp. 93–97. U.S. Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service.
- WOLKE R.E.; MURCHELANO R.A.; DICKSTEIN C.D.; GEORGE C.J. (1985b) Preliminary evaluation of the use of macrophage aggregates (MA) as fish health monitors. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 35, 222–227.

FRENTE MARÍTIMO

SUMARIO

VOLUMEN 23 ABRIL 2013

INDICADORES ECONÓMICOS Y SOCIALES PARA LA APLICACIÓN DEL ENFOQUE ECOSISTÉMICO EN LA PESCA (EEP)

Ángel A. Gumy 9

LA CAJA DE HERRAMIENTAS DE LA FAO PARA LA APLICACIÓN DEL ENFOQUE ECOSISTÉMICO AL MANEJO DE LAS PESQUERÍAS

Johanne Fischer 23

INTERACCIONES ENTRE LA ACTIVIDAD PESQUERA Y LOS PROYECTOS DE DESARROLLO EN LA ZONA ECONÓMICA EXCLUSIVA URUGUAYA

Yamandú Marín, Julio Chocca, Bernardo González y Gastón Beathyate 29

SISTEMA INTER-JURISDICCIONAL DE ÁREAS PROTEGIDAS COSTERO MARINAS – SIAPCM – ARGENTINA. (PROYECTO ARG/10/G47 GEF – PNUD)

Guillermo Caille, José María Musmeci, Guillermo Harris y Ricardo Delfino Schenke 55

INTERACCIÓN INDIRECTA ENTRE LA PESCA DE ARRASTRE DE FONDO COSTERA Y LAS HEMBRAS DE LEÓN MARINO SUDAMERICANO (*Otaria flavescens*) EN URUGUAY: ¿EXISTE CO-USO O COMPETENCIA POR RECURSOS?

Federico G. Riet Sapriza; Daniel P. Costa; Valentina Franco-Trecu; Yamandú Marín; Julio Chocca, Bernardo González; Gastón Beathyate; B. Louise Chilvers y Luis A. Hüickstadt 65

EVOLUCIÓN TEMPORAL DEL NIVEL TRÓFICO MEDIO DE LOS DESEMBARQUES EN LA ZONA COMÚN DE PESCA ARGENTINO-URUGUAYA AÑOS 1989-2010

Milessi Andrés C. & Andrés J. Jaureguizar 83

EL ENDEMISMO EN LAS RAYAS DE LA ZONA COMÚN DE PESCA ARGENTINO-URUGUAYA

Figueroa, D.E.; Barbini, S. I.; Scenna, I. I.; Belleggia, M.; Delpiani, G. & Spath, C. 95

DISTRIBUCIÓN BATIMÉTRICA DE LA FAMILIA SCIAENIDAE (PERCIFORMES) EN EL ATLÁNTICO SUDOCIDENTAL Y CONSIDERACIONES SOBRE LAS PESQUERÍAS DE LOS PECES DE ESTA FAMILIA

Hébert Nion, Yamandú Marín, Pablo Meneses y Pablo Puig 105

DINÁMICA DE BIOMASA CON UMBRAL DE ESFUERZO PESQUERO PARA RECURSOS CON PESCA NO DIRIGIDA

Aníbal Aubone 133

ANÁLISIS DE LA PESQUERÍA DE BESUGO (*Pagrus pagrus*) EN EL ÁREA NORTE DEL ECOSISTEMA COSTERO BONAERENSE URUGUAYO. PERÍODO 2000-2010

Nerina Lagos, Sebastián García y Nora Fernández Aráoz 155

DIAGNÓSTICO DEL ESTADO DE EXPLOTACIÓN DE LOS RECURSOS CORVINA Y PESCADILLA EN EL ÁREA DEL TRATADO. EVALUACIÓN Y RECOMENDACIONES DE MANEJO PARA EL AÑO 2011

María Inés Lorenzo, Claudia Carozza y Claudio Ruarte 177

DISTRIBUCIÓN Y ABUNDANCIA DE LA MERLUZA (*Merluccius hubbsi*) Y SU RELACIÓN CON LAS VARIABLES OCEANOGRÁFICAS (TEMPERATURA Y SALINIDAD) ENTRE 35° S Y 40° S DURANTE EL OTOÑO DEL AÑO 2011

D'Atri, Luciana L., Molinari, Graciela y Rodríguez, Karina 197

DISTRIBUCIÓN Y ABUNDANCIA DE PRERRECLUTAS DE MERLUZA (*Merluccius hubbsi*) EN LA ZONA COMÚN DE PESCA ARGENTINO-URUGUAYA EN 2000, 2001 Y 2009

Martín D. Ehrlich, Daniel R. Brown y Laura Machinandiarena 215

ANÁLISIS DE PRODUCTIVIDAD Y SUSCEPTIBILIDAD DE LA FAUNA ACOMPAÑANTE DE LA MERLUZA COMÚN EN LA ZONA COMÚN DE PESCA ARGENTINO-URUGUAYA

Alejandra M. Cornejo; B. Gabriela McLean; Ernesto Godelman 231

DISTRIBUCIÓN, RENDIMIENTO, ESTRUCTURA DE TALLA Y SEXO DEL RUBIO (*Helicolenus dactylopterus lahillei*) CAMPAÑAS EH 02/08 – 04/09

Leonardo S. Tringali, Pedro M Ibáñez y Norberto A. Scarlato 249

DETERMINACIÓN DEL NÚMERO MÍNIMO DE EJEMPLARES DE UNA MUESTRA DE RUBIO (*Helicolenus dactylopterus lahillei*) NORMAN, 1937) PARA ESTIMAR LA TALLA MEDIA DE CAMPAÑAS DE INVESTIGACIÓN

Leonardo S. Tringali y Julieta Rodríguez 265

SURGENCIA, ¿UN FENÓMENO COMÚN EN LA COSTA NORTE DEL RÍO DE LA PLATA EXTERIOR?

Maira Luz Clara, Claudia Simionato, Claudia Campetella, Diego Moreira, Raúl Guerrero 275

RESEÑA DE HERRAMIENTAS GENÉTICAS UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DE LAS CORVINAS DEL RÍO DE LA PLATA Y SU FRENTE MARÍTIMO

Alejandro Márquez y Alfredo Pereira 291

UTILIZACIÓN DE CENTROS PIGMENTARIOS DE *Sympterygia bonapartii* (*Chondrichthyes, rajidae*) COMO HERRAMIENTA BIOANALÍTICA DE CONTAMINACIÓN

Ubrig, Román; Galeano, Noelia; Schwerdt, Carla; Mas, Javier; Sartuqui, Javier; Guagliardo, Silvia; Acebal, Florencia; Paolillo, Melisa y Tanzola, Daniel 301